Anti-GM1 Antibodies ELISA

Med enzym-etikettene IgG og IgM

Påvisning av anti-gangliosid M1 antistoffer med ELISA

(GM1)

Til *In Vitro*-diagnostisk bruk

EK-GM1-GM 96 tester

Utgivelsesdato: 2023-08-17
Versjon A2

Produsent
BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Sveits
Tel.: +41 61 487 12 12
Fax: +41 61 487 12 34
info@buhlmannlabs.ch

NORSK

TILTENKT BRUK

Anti-GM1 Antibodies ELISA er en *in vitro* diagnostisk analyse for semikvantitativ bestemmelse av IgG- og/eller IgM-antistoffer mot det nevrale antigenet/epitopen GM1 i serumprøver. Analyseresultatene kan brukes til å støtte diagnostisering av autoimmune perifere nevropatier i forbindelse med andre kliniske funn og laboratoriefunn.
Kun til laboratoriebruk.

ANALYSENS PRINSIPP

Anti-GM1 Antibodies ELISA tillater måling av antistoffer mot GM1 (gangliosid M1) i serum. Mikrotiterplaten er belagt med gangliosider: GM1.
Pasientsera, kontroller og kalibrator legges til brønnene i mikrotiterplaten. Etter 2 timers inkubering ved 2 – 8 °C og vasketrinn, oppdager deteksjonsantistoffer (anti-IgG, anti-IgM) konjugert til pepperrotperoksidase (HRP) anti-GM1-antistoffene bundet til det immobiliserte GM1-gangliosidet på platen. Etter ytterligere 2 timers inkubering og ytterligere vasketrinn tilsettes det kromogene HRP-substratet, tetrametylbenzidin (TMB) (dannelse av blå farge) etterfulgt av en stoppreaksjon (bytte til gul farge). Absorpsjonen måles ved 450 nm. Den målte absorbansen er proporsjonal med titeren av anti-GM1-antistoffer som er tilstede i en gitt prøve. Antistofftitere uttrykkes som %-andel av kalibratoren og kan tilordnes til titerkategorier (negativ, gråsone, positiv).

MEDFØLGENDE REAGENSER OG KLARGJØRING

Reagenser	Mengde	Kode	Rekonstituering
Mikrotiterplate Mikrotiterplate forhåndsbelagt med GM1	12 x 8 brønn stripe med ramme	B-GM1-MP	Klar til bruk
Plateforsegler	3 stk		
Vaskebuffer-konsentrat (10x) med konserveringsmidler	1 flaske x 100 mL	B-GCO-WB	Fortynn med 900 mL avionisert vann
Inkuberingsbuffer med konserveringsmidler	1 flaske x 100 mL	B-GCO-IB	Klar til bruk
Kalibrator lyofilisert med konserveringsmidler	1 hetteglass	B-GCO-CA	Tilsett 1,5 mL inkuberings-buffer
Kontroll Negativ, Lav og Medium [1] lyofilisert med konserveringsmidler	3 hetteglass	B-GCO-CONSET	Tilsett 1,5 mL inkuberings-buffer
Enzymetikett IgG anti-humant IgG antistoff konjugert til HRP i en buffermatrise med konserveringsmidler	1 hetteglass x 11 mL	B-GCO-ELG	Klar til bruk
Enzymetikett IgM anti-humant IgM-antistoff konjugert til HRP i en buffermatrise med konserveringsmidler	1 hetteglass x 11 mL	B-GCO-ELM	Klar til bruk
TMB-substrat TMB i sitratbuffer	1 hetteglass x 11 mL	B-TMB	Klar til bruk
Stoppløsning 0,25 M svovelsyre	1 hetteglass x 11 mL	B-STS	Klar til bruk **Korroderende middel**

Tabell 1

[1] Kontrollene inneholder lot-spesifikke nivåer av anti-GM1-antistoffer. Se det ekstra QC-dataarket for faktisk gjennomsnittlig OD og %-andel.

REAGENSENES HOLDBARHET OG OPPBEVARING

Forseglede/uåpnede reagenser	
Oppbevares ved 2–8 °C. Ikke bruk reagensene etter utløpsdatoen som er trykt på etikettene.	
Åpnede/rekonstituerte reagenser	
Mikrotiterplate	Legg ubrukte strimler umiddelbart tilbake i folieposen med tørkemiddelpakker, og forsegl posen langs hele zip-forseglingskanten. Oppbevares i opptil 6 måneder ved 2-8 °C.
Fortynnet vaskebuffer	Oppbevares i opptil 6 måneder ved 2-8 °C.
Inkuberingsbuffer	
Enzymetiketter	
TMB-substrat	
Kalibrator	
Kontroller	
Stoppløsning	Oppbevares i opptil 6 måneder ved 18-28 °C.

Tabell 2

MATERIALER SOM ER NØDVENDIGE, MEN SOM IKKE FØLGER MED

- Presisjonspipetter med engangstupper: 10 µL, 20 µL, 100 µL og 1000 µL pipetter
- Polystyren- eller polypropylenrør for klargjøring av prøvefortynninger
- 1000 mL sylinder for fortynning av vaskebufferen
- Mikrotiterplatevasker
- Trekkpapir
- Mikrotiterplaterister
- Mikrotiterplate-avleser for måling av absorbans ved 450 nm.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Forholdsregler for sikkerhet

- Kalibratoren og kontrollene i dette settet inneholder komponenter av human opprinnelse. Selv om de er testet og funnet negative for HBV, HCV og HIV1/2, skal reagensene håndteres som om de er i stand til å overføre infeksjoner og skal håndteres i samsvar med god laboratoriepraksis (GLP) ved bruk av korrekte forholdsregler.
- Settet inneholder komponenter som er klassifisert i samsvar med forskrift (EF) nr. 1272/2008.
  - Stoppløsningen inneholder svovelsyre (kons. 2,5–5%). Derfor kan reagensene gi hudirritasjon (H315), alvorlig øyeirritasjon (H319), og kan være korroderende for metaller (H290).
  - Kalibratoren, kontrollene og enzymetikettene inneholder 2-metyl-4-isotiazolin-3-on-hydroklorid (kons. ≥ 0,0015 %), derfor kan reagensene forårsake allergiske hudreaksjoner (H317).

- Inkubasjonsbufferen og vaskebufferen inneholder gentamicinsulfat, og reagensene kan derfor forårsake en allergisk hudreaksjon (H317).

- Unngå at reagensene kommer i kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Hvis det oppstår kontakt, skal du vaske umiddelbart med store mengder vann, hvis ikke kan det oppstå irritasjon/svie.
- Reagenser og kjemikalier må behandles som farlig avfall i samsvar med nasjonale retningslinjer eller forskrift for biologisk farlig avfall.

Tekniske forholdsregler

- Les instruksjonene nøye før testen utføres. Testens ytelse vil påvirkes vesentlig hvis reagensene er feil fortynnet, endret eller oppbevart under andre forhold enn dem som er beskrevet i bruksanvisningen.

ELISA-prosedyre

Reagensenes temperatur

- Klargjør reagensene før du starter analyseprosedyren. Trinn 3–9: Reagenser som brukes i trinn 3–9, må være kalde (2–8 °C) og holdes kalde under pipettering og vasking. Anbefaling: Klargjør vaskebufferen dagen før analysen skal utføres, og sett den i kjøleskap over natten.
- Utfør alle vasketrinn med kald (2–8 °C) vaskebuffer.
- Juster TMB-substrat og stoppløsning til romtemperatur (18–28 °C) i begynnelsen av analyseprosedyren.

Vasketrinn

- Vasketrinn 3, 6 og 9 er avgjørende for å fjerne rester etter produksjonsprosessen og/eller potensielt ubundede antistoffer i brønnene.
- En automatisk vaskemaskin som kjører i "platemodus", anbefales sterkt. Det vil si at hvert prosesstrinn (dispensering/aspirering) utføres på alle strimlene sekvensielt, før instrumentet fortsetter til neste vaskesyklus.
- Påse at alle brønnene er helt tomme etter den siste vaskesyklusen.

Inkubering av substrat

- Trinn 11: Rist mikrotiterplatene under validering med substrat. Avhengig av plateristermodellen anbefaler vi 400–600 opm. Løsningen skal bevege seg i brønnene, men ikke renne over.

Settets komponenter

- Komponentene må ikke brukes etter utløpsdatoen som er trykt på etikettene.
- Ikke bland ulike reagensloter.
- Alle anstrengelser skal gjøres for å sikre at det ikke oppstår krysskontaminering mellom reagenser, prøver eller mellom brønner.
- Mikrobrønner kan ikke gjenbrukes.

PRØVEINNSAMLING OG -OPPBEVARING

Prosedyren krever henholdsvis < 0,1 mL blod eller < 50 µL serum.

Samle inn blod i vanlige venepunksjonsrør uten tilsetninger, og unngå hemolyse. Klargjør serumet i henhold til produsentens anvisninger. Dekanter serumet.

Serumprøver kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil åtte uker, ved 28 °C i opptil én uke og ved ≤ -20 °C i 16 uker. Frosne prøver skal tines og blandes grundig ved lett virvling eller inversjon før bruk.

Vi anbefaler å klargjøre alikvoter av serumprøver før frysing, for å unngå gjentatte fryse-/tinesykluser.

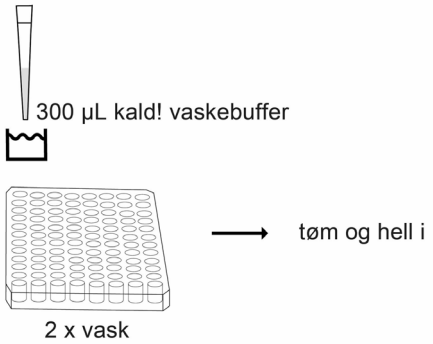
ANALYSEPROSEDYRE

Merk: Juster TMB-substratløsningen til romtemperatur (18–28 °C).

1. Fortynn prøver 1:50 med inkuberingsbuffer. Bruk f.eks. 10 µL serum + 490 µL med kald! (2-8 °C) inkuberingsbuffer. Bland grundig ved å vorteksere og la fortynnede prøver samt rekonstituerte kalibratorer og kontroller være ved 2-8 °C i 30 minutes før pipettering.
2. Klargjør en plateramme med nok strimler til det nødvendige antallet kalibratorer, kontroller og prøver. Fjern overflødige strimler fra rammen og forsegl den i folieposen sammen med tørkemiddelpakken umiddelbart. Oppbevares i kjøleskap.

Merk: Bruk kalde reagenser i trinn 3 til 9.

3. Vask brønnene to ganger med minst 300 µL kald! (2-8 °C) vaskebuffer per brønn. Tøm brønnene og bank platen bestemt på trekkpapir for å fjerne gjenværende væske fullstendig.



Merk: Gå straks videre til de neste trinnene.

Påvisning av IgG-isotype:

4a. Pipetter 100 µL kalibrator i brønn A1 (se figur 1a).

4b. Pipetter 100 µL medium kontroll i brønn B1, lav kontroll i brønn C1 og negativ kontroll i brønn D1 (se figur 1a).

4c. Pipetter 100 µL av fortynnet prøve 1 i brønn E1 (se figur 1a).

4d. Pipetter 100 µL av fortynnet prøve 2 i brønn F1 (se figur 1a).

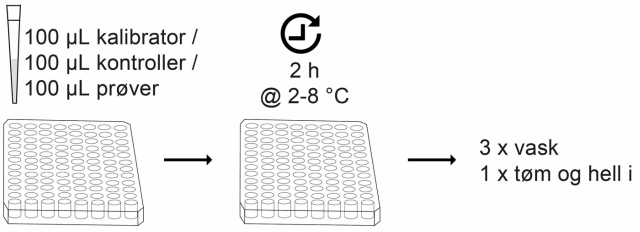
4e. Pipetter 100 µL fortynnede prøver x-y inn i de påfølgende brønnene (se figur 1a).

Påvisning av IgM-isotype:

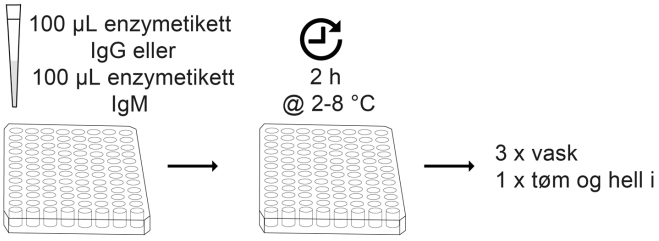
4f. Gjenta trinn 4a-4e med de påfølgende brønnene.

Merk: Kalibrator og kontroller bør kjøres separat for IgG- og IgM-isotypene. Vi anbefaler å teste kalibrator og kontroller i duplikater hvis det brukes mer enn 3 strimler per kjøring. Se figur 1b for alternativ pipetteringsplan.

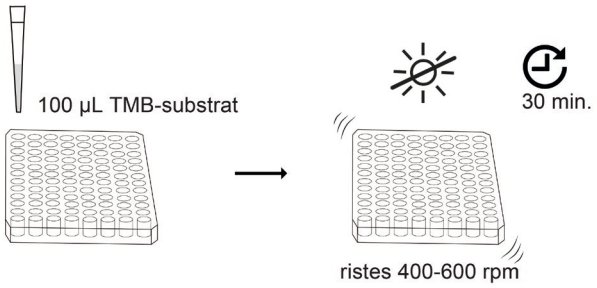
5. Dekk platen med en plateforsegler og inkuber i 2 timer (± 5 min) ved 2–8 °C (ikke rist platen).
6. Fjern plateforsegleren. Tøm brønnene og vask tre ganger med minst 300 µl kald! (2-8 °C) vaskebuffer per brønn. Tøm brønnene og bank platen bestemt på trekkpapir for å fjerne vaskebufferen fullstendig.



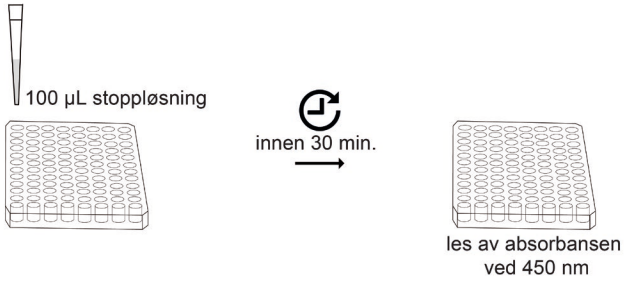
7. Tilsett 100 µL med enten enzymetikett IgG eller IgM til de respektive brønnene (se figur 1).
8. Dekk platen med en plateforsegler og inkuber i 2 timer (± 5 min) ved 2–8 °C (ikke rist platen).
9. Fjern plateforsegleren. Tøm brønnene og vask tre ganger med minst 300 µl kald! (2-8 °C) vaskebuffer per brønn. Tøm brønnene og bank platen bestemt på trekkpapir.



10. Tilsett 100 µL TMB substratløsning (utjevnet til romtemperatur) i hver brønn.
11. Dekk platen med en plateforsegler, beskytt platen mot lys og inkuber på en platerister innstilt på 400–600 opm, ved 18–28 °C i 30 ±2 minutter.



12. Tilsett 100 µL stoppløsning i alle brønnene. Fjern luftbobler med en pipettespiss. Gå videre til trinn 13 innen 30 minutter.
13. Les av absorbansen ved 450 nm i en mikrotiterplate-avleser.



KVALITETSKONTROLL

En grundig forståelse av denne bruksanvisningen er nødvendig for vellykket bruk av produktet. Pålitelige resultater oppnås bare ved bruk av presise laboratorieteknikker og nøye overholdelse av denne bruksanvisningen.

Anti-GM1 Antibodies ELISA-settet leveres med tre kontroller: negativ, lav og medium kontroll. Kontrollene har tilordnede verdiområder (% -andel) som er angitt på kvalitetskontroll-dataskjemaet som følger med hvert sett. Kontrollmålingene må være innenfor de angitte verdiområdene for at resultatene skal være gyldige.

I tillegg til settkontrollene anbefaler vi å bruke serumpooler for intern kvalitetskontroll.

En minimums OD_{450nm}-verdi på 1,2 anbefales for kalibratoren.

Ytelsesegenskapene bør være innenfor etablerte grenser. Reproduserbarheten til standardkurveparametrene og kontrollverdiene skal være innenfor etablerte grenser for akseptabilitet i laboratoriet. Hvis analysens ytelse ikke oppfyller de etablerte grensene og repetisjon har utelukket feil i teknikk, skal følgende kontrolleres: i) temperaturkontroll (reagenser brukt i trinn 3–9 holdt ved 2–8 °C); ii) nøyaktigheten til termometere, pipetterings- og tidtakerenheter; iii) ELISA-avleserens innstillinger; iv) reagensenes utløpsdato; v) oppbevarings- og inkuberingsbetingelser; vi) farge på TMB-substratløsning (skal være fargeløs); vii) vannets renhet; viii) aspirerings- og vaskemetoder.

STANDARDISERING OG METROLOGISK SPORBARHET

Det finnes ingen internasjonalt eller nasjonalt anerkjent referansemateriale eller referansemålingsprosedyrer for antigangliosid i serumprøver. Anti-GM1 Antibodies ELISA er standardisert mot et internt etablert referansemateriale. Kalibratorverdier tilordnes i henhold til en verdioverføringsprotokoll (ref. 1), for å garantere metrologisk sporbarhet, og er angitt i vilkårlige «prosentandel»-enheter. 95% konfidensintervall for den kombinerte usikkerheten til produktkalibratorer ble bestemt til å være 29,3% for IgG-antistoffer og 37,6% for IgM-antistoffer.

BEREGNING AV TESTRESULTATER

1. Registrer absorbans (OD) ved 450 nm for hver brønn (kalibrator, kontroller og prøver).
2. Hvis det ble utført flere kalibrator- og kontrollmålinger, tar du et gjennomsnitt av verdiene.

Resultatene uttrykkes som forholdet mellom prøver-absorbans og (gjennomsnittlig) kalibrator-absorbans.

$$\text{\% andel:} \quad \frac{\text{prøve- eller kontroll-absorbans}}{\text{kalibrator-absorbans}} \times 100$$

Programmer for beregning av resultater som % rate er tilgjengelig på de fleste mikroplatelesere.

Merk: Resultatene presentert i tabell 5 er eksempler og oppgis kun for demonstrasjonsformål.

BEGRENSNINGER

- På grunn av poly-reaktiviteten til autoimmune antistoffer og forskjeller i geografisk prevalens, skal analyseresultatene kun brukes til å støtte den kliniske tolkningen av nevropatien av en ekspert/spesialist i kombinasjon med pasientens kliniske bilde (ref. 2).
- Denne testen er ikke validert for plasmaferese.
- Intravenøse immunglobuliner (IVIg) kan påvirke testresultatene.

REFERANSEINTERVALLER OG CUT-OFF

Referanseintervallet for anti-GM1 Antibodies ELISA ble etablert i henhold til CLSI C28-A3 med 120 serumprøver fra selverklærte friske individer. Distribusjonsfrekvensen av anti-GM1-antistoffer i normale blodgivere ble klassifisert i titerkategorier: negativ (<30%-andel), gråsone (30-50%-andel)) og positiv (>50%-andel). Resultatene er oppsummert i tabell 7. Cut-off-verdien for positivitet er 50% andel.

TOLKNING AV RESULTATER

Gangliosider	IgG eller IgM		
	Verdier (% andel)		
	<30	30-50	>50
GM1	Negativ	Test igjen på et senere tidspunkt	Positiv

Tabell 3

Testresultatene skal tolkes i sammenheng med informasjon som er tilgjengelig fra den kliniske vurderingen av pasienten, og andre diagnostiske prosedyrer.

YTELSESEGENSKAPER

Presisjon innen laboratoriet: 6,8 – 12,9% CV
Presisjon innen laboratoriet ble etablert i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved bruk av standardisert studiedesign 20 dager x 2 kjøringer x 2 replikater. Tre (3) sammenslåtte pasientserumprøver ble testet. Resultatene er oppsummert i tabell 7.

Reproduserbarhet: 7,7 – 16,1% CV
Reproduserbarhet ble etablert i henhold til CLSI-retningslinje EP05-A3 ved bruk av standardisert studiedesign3 instrumenter/lot/operatører x 5 dager x 5 replik ater. Tre (3) sammenslåtte pasientserumprøver ble testet. Resultatene er oppsummert i tabell 8.

Grense for blank (LoB) ≤ Grense for sikker målbar verdi (LoD): ≤ 30% andel
LoB og LoD ble etablert i henhold til CLSI-retningslinjen EP17-A2 ved bruk av ikke-parametrisk analyse. Resultatene er oppsummert i tabell 9.

"Hook"-effekt ved høy dose

Det ble ikke observert noen begrensning på grunn av en høy dose hook-effekt til måleområdet.

Kryssreaktivitet

Ingen systematisk kryssreaktivitet ble observert for prøver fra pasienter med ulike autoimmune sykdommer (tabell 10) og fra pasienter med andre nevrologiske lidelser (tabell 11).

KLINISK YTELSE

Den kliniske ytelsen ble vurdert ved deskriptiv analyse av fagfellevurdert vitenskapelig litteratur. Fire (4) studier tok for seg den kliniske ytelsen til Anti-GM1 Antibodies ELISA ved diagnostisering av autoimmune perifere nevropatier (ref. 3-6). Resultatene av analyse og studiedetaljer er gitt i henholdsvis tabell 4 og tabell 12.

N perifer nevropati	148 (102 pediatriske GBS, 14 CIDP, 32 GBS)
N kontroller	341 (70 DC, 142 NC, 129 HC
Sensitivitet, gjennomsnitt (95% KI)	48,7% (27,9 – 69,5%)
Spesifisitet, gjennomsnitt (95% KI)	77,8% (60,9 – 94,7%)

Tabell 4

GBS, Guillain-Barré-Syndrom; DC, Ikke-nevrologisk sykdomskontroll NC, nevrologisk kontroll; HC, frisk kontroll; CIDP, Kronisk inflammatorisk demyeliniserende polynevropati; KI, konfidensintervall

INTERFERERENDE STOFFER

Analysens følsomhet for orale og injiserbare legemidler, samt for endogene stoffer ble vurdert i henhold til CLSI-retningslinje EP07-A3. Bias i resultatene ≥ ± 20% andel ble ansett som interferens.

Ingen interferens ble påvist med følgende substanser opp til oppførte konsentrasjoner: intravenøst immunglobulin (20 mg/mL), rituximab (3 mg/mL), kladribin (273 ng/mL), interferon alfa-2a (49,5 ng/mL), gabapentin (26,7 µg/mL), ibuprofen (0,22 mg/mL), klorambucil (1,96 µg/mL), prednison (99 ng/mL), prednisolon (1,2 µg/mL), revmatoid faktor (2340 IU/mL), hemoglobin (10 mg/mL), hemolysat (10 mg/mL), triglyserid (15 mg/mL), konjugert bilirubin (20 µg/mL), ukonjugert bilirubin (150 µg/mL).

TABELLER OG FIGURER

Eksempler på mikrotiterplateoppsett som måler IgG- og IgM-isotyper av 4 prøver (figur 1a) eller 36 prøver (figur 1b)

	IgG 1	IgM 2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Calibrator	CAL	CAL											A
Control	CTR Med	CTR Med											B
Control	CTRL Low	CTRL Low											C
Control	CTRL Neg	CTRL Neg											D
GM1	1	1											E
GM1	2	2											F
GM1	3	3											G
GM1	4	4											H

Figur 1a

	IgG 1	2	3	4	5	6	IgM 7	8	9	10	11	12	
Calibrator & Controls	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	CAL	CTRL Low	A
	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	CTRL Med	CTRL Neg	B
GM1	1	7	13	19	25	31	1	7	13	19	25	31	C
GM1	2	8	14	20	26	32	2	8	14	20	26	32	D
GM1	3	9	15	21	27	33	3	9	15	21	27	33	E
GM1	4	10	16	22	28	34	4	10	16	22	28	34	F
GM1	5	11	17	23	29	35	5	11	17	23	29	35	G
GM1	6	12	18	24	30	36	6	12	18	24	30	36	H

Figur 1b

Eksempel på resultater

Enzymetikett	Absorbans (OD_{450})		Andel [%]	
B-GCO-ELG/ B-GCO-ELM	IgG	IgM	IgG	IgM
Kalibrator	2,397	2,269		
	2,449	2,343		
Kalibrator gj.sn.	**2,423**	**2,306**	**100,0**	**100,0**
Medium kontroll	1,612	1,583	67	69
	1,543	1,658	64	72
Medium kontroll gj.sn.	**1,577**	**1,620**	**65**	**70**
Lav kontroll	0,694	0,805	29	35
	0,714	0,817	29	35
Lav kontroll gj.sn.	**0,704**	**0,811**	**29**	**35**
Negativ kontroll	0,055	0,091	2	4
	0,064	0,090	3	4
Negativ kontroll. Gj.sn.	**0,059**	**0,090**	**2**	**4**
Prøve 1 GM1	0,783	2,197	32	95
	0,802	1,988	33	86
	0,793	**2,095**	**33**	**91**

Tabell 5

Referanseintervall

	Enzym-etikett (isotype)	% normale blodgivere i kategorier < 30 % andel	30-50 % andel	> 50 % andel	% Referansegrense (90% CI)
anti-GM1 Ab	IgG	99,2	0,8	0,0	16 (13,0 – 29,8)
	IgM	95,8	3,3	0,8	24 (14,3 – 40,3)

Tabell 6

Presisjoninnen laboratoriet

Beskrivelse av prøve			Presisjon innen laboratoriet			
	Enzymetikett (Isotyp)	Forventet kategori [% andel]	N	Gjennom-snitt [% andel]	SD [% andel]	CV [%]
anti-GM1 Ab	IgM	30-50	80	48	3,5	7,2
		> 50	80	91	6,2	6,8
	IgG	30-50	80	40	5,1	12,9
		> 50	80	106	13,1	12,4

Tabell 7

Reproduserbarhet

Beskrivelse av prøve			Reproduserbarhet			
	Enzym-etikett (Isotyp)	Forventet kategori [% andel]	N	Gjennom-snitt [% andel]	SD [% andel]	CV [%]
anti-GM1 Ab	IgM	30-50	75	51	4,9	9,7
		> 50	75	94	7,2	7,7
	IgG	30-50	75	39	5,6	14,5
		> 50	75	106	17,1	16,1

Tabell 8

LoD og LoB

	Enzymetikett (isotype)	LoB [% andel]	LoD [% andel]
anti-GM1 Ab	IgM	5	21
	IgG	6	15

Tablell 9

Kryssreaktivitet

Tilordnet antistoff	Diagnose	#
Anti-nøytrofilt cytoplasmatisk antistoff (ANCA)	Vaskulitt	3
	Annet (ANCA-positive betegnede prøver)	10
Anti-nukleære antistoffer (ANA)	Systemisk lupus erythematosus	5
	Revmatoid artritt	9
	Sjøgrens syndrom	6
	Annet (ANA-positive betegnede prøver)	3
Anti-tyroglobulin-antistoffer (anti-Tg)	Autoimmun tyroiditt	5
Anti-ribonukleoprotein-antistoffer	Blandet bindevevssykdom	1
Anti-GQ1b, anti-GM1, anti-GD1b	Autoimmune perifere nevropatier	1
Anti-acetyl-kolinreseptor-antistoffer og anti-muskelspesifikk tyrosinkinase	Myasthenia gravis	7

Tabell 10

Perifere nevropatier	#
Alkohol	1
Diabetes	5
Perifer nevropati-lignende lidelser	**#**
Amyotrofisk lateral sklerose (ALS)	15
Sarkoidose	4
Waldenstrøms makroglobulinemi (WM)	4
Chagas sykdom	5

Tabell 11

TABELLER OG FIGURER

Klinisk ytelse

Studie	Positive kontroller (cases)	Negative kontroller	Epitop	Sensi-tivitet	Spesitivi-tet
Hashemilar et al., 2014	Pediatriske GBS (n = 45)	DC (n = 35)	GM1	0,51	0,89
Sharma et al., 2011	Pediatriske GBS (n = 57)	NC (n = 42)	GM1	0,82	0,33
		DC (n = 35)			0,83
Khandelwal et al., 2006	GBS (n = 13)	HC (n = 19)	GM1	0,31	0,74
Uetz-von Allmen et al., 1998	GBS, KIDP (n = 19, 14)	NC (n = 100)	GM1	0,30	0,93
		HC (n = 110)			0,95

Tabell 12

GBS, Guillain-Barré-syndrom; DC, ikke-nevrologisk sykdomskontroll; NC, nevrologisk kontroll; HC, frisk kontroll; CIDP, kronisk inflammatorisk demyeliniserende polynevropati

anti-GM1 Antibodies ELISA

Forhåndsbelagt mikrotiterplate

↓ *vask 2 x med ≥ 300 µL (kald)! vaskebuffer*

100 µL kalibrator, kontroller eller serumprøver (1:50)

↓ *inkuber 2 timer (±5 min) ved 2-8 °C*

vask 3 x med ≥ 300 µL (kald)! vaskebuffer

tilsett 100 µL enzymetikett(er)

↓ *inkuber 2 timer (±5 min) ved 2-8 °C*

vask 3 x med ≥ 300 µL (kald)! vaskebuffer

tilsett 100 µL TMB-substrat (omgivelsestemperatur)!

↓ *inkuber 30 min (±2 min) ved 18-28 °C*
på en platerister ~400-600 rpm

tilsett 100 µL stoppløsning (omgivelsestemperatur)!

➡ **Les av absorbansen ved 450 nm (innen 30 minutter)**

TID TIL RESULTAT: 4,5 TIMER

REFERANSER

1. Blirup-Jensen, S., Johnson, A. M. & Larsen, M. Protein standardization V: Value transfer. A practical protocol for the assignment of serum protein values from a Reference Material to a Target Material. *Clin. Chem. Lab. Med.* **46,** 1470–1479 (2008).

2. Bourque, P. R. et al. Autoimmune peripheral neuropathies. *Clinica Chimica Acta* **449**, 37–42 (2015).

3. Hashemilar, M. et al. Evaluating the status of antiganglioside antibodies in children with Guillain-Barré syndrome. *Neuroimmunomodulation* **21**, 64–68 (2013).

4. Sharma, M. B. et al. The presence of Mycoplasma pneumoniae infection and GM1 ganglioside antibodies in Guillain-Barré syndrome. *J. Infect. Dev. Ctries*. **5**, 459–464 (2011).

5. Uetz-von Allmen, E. et al. Antiganglioside GM1 antibodies and their complement activating capacity in central and peripheral nervous system disorders and in controls. *Eur. Neurol*. **39**, 103–110 (1998).

6. Khandelwal, D. et al. IgM anti-GM1 antibody titers in patients with monomelic amyotrophy. *Neurol. India* **54**, 399–401 (2006).

ENDRINGSLOGG

Dato	Versjon	Endring
2023-08-17	A2	Endring i *Tiltenkt bruk* og produktnavn Omformulering av *Analysens prinsipp* med titerkategorier negativ, gråsone, positiv Nye stabiliteter i bruk for reagenser Oppdatering i avsnittet *Advarsler og forsiktighetsregler* Revisjon av avsnittene *Prøveinnsamling og -oppbevaring, Analyseprosedyre,* og *Standardisering og metrologisk sporbarhet* Ny ordlyd i avsnittet *Kvalitetskontroll* Oppdatering av avsnittet *Begrensninger* Revisjon av avsnittene *Referanseintervaller og cut-off, Ytelsesegenskaper,* og *Interfererende stoffer* Introduksjon av kapittelet *Klinisk ytelse* Revisjon av avsnittene *Referanser og Symboler* Inkludering av nummer for kontrollorgan i CE-merke – prosedyre for konformitetsvurdering i henhold til IVDR 2017/746 Revisjon av avsnittet *Symboler*

RAPPORTERING AV HENDELSER I EU-MEDLEMSSTATER

Hvis det har oppstått en alvorlig hendelse i forbindelse med denne enheten, skal det rapporteres uten opphold til produsenten og kompetent myndighet i din medlemsstat.

SKADE UNDER FORSENDELSE

Varsle distributøren hvis dette produktet ble mottatt med skade.

SYMBOLER

BÜHLMANN bruker symboler og tegn som er listet opp og beskrevet i ISO 15223-1. I tillegg brukes følgende symboler og tegn:

Symbol	Forklaring
MP	Mikrotiterplate
BUF WASH 10X	Vaskebufferkonsentrat (10x)
BUF INC	Inkuberingsbuffer
CAL	Kalibrator
CONTROL -	Kontroll negativ
CONTROL L	Kontroll Lav
CONTROL M	Kontroll medium
EL IgG	Enzymetikett IgG
EL IgM	Enzymetikett IgM
SUBS TMB	TMB-substrat
SOLN STOP	Stoppløsning

CE 0123